

(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 公開特許公報 (A)

(11) 特許出願公開番号

特開平10-290699

(43) 公開日 平成10年(1998)11月4日

(51) Int.Cl.⁶

識別記号

F I

C 1 2 P 7/64

C 1 2 P 7/64

C 0 7 C 69/602

C 0 7 C 69/602

C 1 1 C 3/10

C 1 1 C 3/10

審査請求 未請求 請求項の数 4 F D (全 5 頁)

(21) 出願番号

特願平9-116281

(22) 出願日

平成9年(1997)4月18日

(71) 出願人 000004101

日本合成化学工業株式会社
大阪府大阪市北区大淀中一丁目1番38号
梅田スカイビル タワーイースト

(71) 出願人 592151753

島田 裕司
大阪府堺市堺区東4-2-31

(72) 発明者 島田 裕司

大阪府堺市堺区東4丁2番31号

(72) 発明者 宮永 茂男

大阪府大阪市西淀川区歌島2丁目7番2号

(72) 発明者 杉原 耿雄

兵庫県伊丹市千鶴6丁目87番地

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 ャーリノレン酸高炭含有トリグリセリド及び／またはジホモヤーリノレン酸高炭含有トリグリセリドを含む油脂の製造法

(57) 【要約】

【課題】 保存安定性に優れたヤーリノレン酸またはジホモヤーリノレン酸を高炭度含有するトリグリセリドを、長期間連続的に得る製造法を提供する。

【解決手段】 ヤーリノレン酸含有トリグリセリド及び／またはジホモヤーリノレン酸含有トリグリセリドを含む油脂に、中鎖脂肪酸、及び30〜500ppmの水の存在下で、トリグリセリドの1、3-位のエステル結合のみに作用するリパーゼを反応させる。

【特許請求の範囲】

【請求項1】 γーリノレン酸含有トリグリセリド及び／またはジホモγーリノレン酸含有トリグリセリドを含む油脂に、中鎖脂肪酸、及び30～500ppmの水の存在下で、トリグリセリドの1，3－位のエステル結合のみに作用するリパーゼを反応させることを特徴とするγーリノレン酸高度含有トリグリセリド及び／またはジホモγーリノレン酸高度含有トリグリセリドを含む油脂の製造法。

【請求項2】 ビタミンEの存在下で反応させることを特徴とする請求項1記載のγーリノレン酸高度含有トリグリセリド及び／またはジホモγーリノレン酸高度含有トリグリセリドを含む油脂の製造法。

【請求項3】 リパーゼとして固定化リパーゼを用いることを特徴とする請求項1または2記載のγーリノレン酸高度含有トリグリセリド及び／またはジホモγーリノレン酸高度含有トリグリセリドを含む油脂の製造法。

【請求項4】 γーリノレン酸含有トリグリセリド及び／またはジホモγーリノレン酸含有トリグリセリドを含む油脂が、植物、藻類又は菌類から抽出したものであることを特徴とする請求項1～3いずれか記載のγーリノレン酸高度含有トリグリセリド及び／またはジホモγーリノレン酸高度含有トリグリセリドを含む油脂の製造法。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】本発明は、γーリノレン酸高度含有トリグリセリド及び／またはジホモγーリノレン酸高度含有トリグリセリドの製造法に関する。

【0002】

【従来の技術】近年、高度不飽和脂肪酸含有トリグリセリドの有用な生理活性が注目されている。特にγーリノレン酸含有トリグリセリドやジホモγーリノレン酸含有トリグリセリドは、アトピー性皮膚炎、慢性関節炎リウマチ、高血圧などの成人病に対する改善作用や制癌作用、免疫賦活作用など多くの生理活性作用を有していることが知られている。そして、γーリノレン酸含有トリグリセリドやジホモγーリノレン酸含有トリグリセリドの医薬品、特定保健用食品への利用法について様々な検討がなされている。

【0003】従来より、高度不飽和脂肪酸の損失を少なくし、ジグリセリドを副生することなく高度不飽和脂肪酸を高濃度を含むトリグリセリドを製造する方法が要望されている。例えば、特開昭63-273485号公報では、多価不飽和脂肪酸含有油脂と飽和脂肪酸及び又は

交換反応を利用して、魚油とオレイン酸を原料とし、

1，3－位にオレイン酸を含有し、2－位にドコサヘキサエン酸を含有するトリグリセリドの製造方法が開示されている。更に、特開平8-214891号公報では、油脂、中鎖脂肪酸の存在下で、トリグリセリドの1，3－位のエステル結合のみに作用するリパーゼを作用させる油脂の製造方法が開示されている。

【0004】

【発明が解決しようとする課題】しかしながら、特開昭63-273485号公報記載の方法では、トリグリセリド中の特定の高度不飽和脂肪酸を高度に濃縮することはできないという問題があり、又、特開平6-287594号公報記載の方法では、エステル交換に用いるオレイン酸が魚油の構成脂肪酸の平均分子量に相当するため、トリグリセリド中のγーリノレン酸含量を高めることはできず、また、生成油脂中のトリグリセリドの収率は原料トリグリセリドに対して約90モル%と高いものではなかった。また、特開平8-214891号公報記載の方法においては、酵素量に対する水分量(0～100%)に言及しているものの、実施例では反応系202.5g当たり2.5g(12,300ppm)という多量の水分が用いられており、本発明者らが水分量について検討した結果、該水分量をγーリノレン酸含有トリグリセリドに適用しても、トリグリセリド中の高度不飽和脂肪酸の濃度が低く、未だ満足するものが得られないということが判明した。

【0005】

【課題を解決するための手段】そこで、本発明者らは、上記事情に鑑みて鋭意研究を行った結果、γーリノレン酸含有トリグリセリド及び／またはジホモγーリノレン酸含有トリグリセリドを含む油脂に、中鎖脂肪酸、及び30～500ppmの水の存在下で、トリグリセリドの1，3－位のエステル結合のみに作用するリパーゼを反応させることで、1，3－位に、γーリノレン酸あるいはジホモγーリノレン酸等の高度不飽和脂肪酸よりも分子量の小さい中鎖脂肪酸が導入され、2－位に存在しているγーリノレン酸あるいはジホモγーリノレン酸はそのまま保持されることにより、結果的にγーリノレン酸、ジホモγーリノレン酸の含量が大きくなったトリグリセリド(以下γーリノレン酸高度含有トリグリセリド、ジホモγーリノレン酸高度含有トリグリセリドと呼ぶ)を収率よく、長時間連続的に製造することに成功し、更に得られたトリグリセリドを含む油脂の保存安定性が良いことを見だし、本発明を完成するに至った。

【0006】以下、本発明を実施例に基づいて説明する。

で、例えば、菜種油、月見草油、黒すり油、ホラーシ油等の植物の油、さらに、クロレラ、スピルリナ等の藻類、モルティエラ属の菌類から抽出した油脂等を挙げることができる。

【0007】本発明の中鎖脂肪酸としては、炭素数 6 ～ 12 個を有する脂肪酸から選ばれるものであり、例えば、カブロン酸、カプリル酸、カプリン酸、ラウリル酸等が挙げられるが、好ましくはカプリル酸、カプリン酸が用いられる。

【0008】本発明で用いられるリパーゼとしては、例えば、リゾプス (*Rhizopus*) 属、リゾムコール (*Rhizomucor*) 属、アスペルギルス (*Aspergillus*) 属などの微生物が生産するもの、ブタ膵臓リパーゼなどが挙げられる。かかるリパーゼについては、市販のものを用いることができる。例えば、リゾプス・デレマー (*Rhizopus delemar*) のリパーゼ (田辺製薬 (株) 製、「タリパーゼ」)、リゾムコール・ミイヘイ (*Rhizomucor miehei*) のリパーゼ (ノボ・ノルディスク (株) 社製、「リボザイムIM」)、アスペルギルス・ニガー (*Aspergillus niger*) のリパーゼ (天野製薬 (株)、「リパーゼA」) 等が挙げられる。

【0009】また本発明においては、かかるリパーゼとして固定化リパーゼを用いると、水分量を 0 にすることができるので、後述する反応系の水分量の調整の点で有効である。

【0010】固定化する担体としては、セラライト、イオン交換樹脂、セラミック等が挙げられるが、好ましくは、セラミックが用いられ、セラミックの種類としてはセラミック担体 SM-10 (日本ガイシ (株) 製) が好ましいが、これに限定されるものではない。固定化リパーゼを用いる場合、リパーゼ量は担体 1g 当たり 100 ～ 2,000,000 ユニット、好ましくは 1,000 ～ 300,000 ユニットである。

【0011】リパーゼの固定化方法としては、特に限定されないが、例えば、上記のユニット数のリパーゼを含む 0.1 ～ 30 重量%、好ましくは 1.0 ～ 20 重量% の蛋白質 (リパーゼ) 水溶液 1 ～ 100 ml、好ましくは 10 ～ 30 ml に 1 ～ 10 g のセラミック担体を懸濁させ、軽く攪拌しながら、-20℃～-80℃に冷却した 10 ～ 300 ml のアセトン、エタノールあるいはイソプロパノールを徐々に加え、リパーゼを固定化担体に吸着させる。沈殿した固相を回収し、減圧条件下で十分乾

酵素の 1 ～ 10 倍量の、油脂/中鎖脂肪酸/水 (30 ～ 40 : 60 ～ 70 : 5 ～ 10 (重量比)) 混合液を通過し、通過液を再度カラムに添加する。この操作を合計で 1 ～ 10 サイクル行う。この際の流速は、圧損がなければいくらでもよい。

【0013】本発明の製造法では、リパーゼで原料トリグリセリド中の 1, 3-位の高度不飽和脂肪酸を中鎖脂肪酸にエステル交換するのであるが、反応系中の原料トリグリセリドを含有する油脂の量としては 10 ～ 50 重量%、好ましくは 15 ～ 50 重量%である。反応系中の中鎖脂肪酸の量としては 50 ～ 90 重量%、好ましくは 50 ～ 85 重量%であり、反応系中の原料トリグリセリド/中鎖脂肪酸の重量比は 1 ～ 10 が好ましく、更には 1 ～ 5 である。

【0014】リパーゼの反応系中の添加量は反応液 1g に対して 4 ～ 80,000 ユニットが好ましく、更には 40 ～ 8,000 ユニットである。ここでの 1 ユニットとは、オリーブ油を基準とし、1 分間に 1 μmol の脂肪酸を生成するのに必要なリパーゼ量を示す。

【0015】本発明では、かかる反応の際に、30 ～ 500 ppm の水の存在下で反応させることを最大の特徴とするもので、好ましくは 50 ～ 150 ppm である。水が 30 ppm 未満ではエステル交換が進行しにくくなり、また、500 ppm を越えると、酵素の安定性が悪くなり、トリグリセリドの加水分解が起こるので好ましくない。水は、リパーゼ、中鎖脂肪酸、原料トリグリセリドを含む油脂中に含まれるものでもよいが合計の水の量が、30 ～ 500 ppm になる様にコントロールすることが必要であり、該コントロールの方法としては、①あらかじめ、各成分の水分量をカルフィッシャー法により測定しておき、合計の水分量をコントロールする方法、②反応成分を完全に乾燥して、後で所定量の水を加える方法等があるが、②の方法が、粉末のリパーゼ等吸着性のあるものの取り扱いが簡便なので好ましい。なお固定化リパーゼが保持している水分量は、本発明の水分量には含まないものとする。

【0016】また、反応方法としては、バッチ法、カラム法いずれも適用可能であるが、連続的に大量に反応が可能、固液分離が容易であるのでカラム法が好ましい。

【0017】以下固定化リパーゼを使用した、カラム法について説明するがこれに限定されるものではない。まず、固定化酵素をカラムに充填し、固定化酵素の 1 ～ 10 倍容量の油脂/中鎖脂肪酸/水 (30 ～ 40 : 60 ～ 70 : 5 ～ 10 (重量比)) 混合液で上記の固定化リパーゼ

～1000ml/hr、好ましくは1～10ml/hr、空間速度0.01～10/hr、好ましくは0.1～1/hrでカラムに通過させる。反応温度10～60℃、好ましくは15～45℃である。

【0018】得られた通過液にアルカリを加えて、エステル交換させて生じた、遊離脂肪酸と交換されなかった過剰の中鎖脂肪酸を中和させて脂肪酸塩とした後、水を加えて、該脂肪酸塩を水層に抽出して、有機溶剤を加えて、トリグリセリド（油層）を回収する。水層は反応系にリサイクルして用いることも可能である。

【0019】上記エステル合成反応により、トリグリセリドは原料トリグリセリドに対して、93～97モル%回収することができ、またトリグリセリド中のγ-リノレン酸を28～35重量%にシホモγ-リノレン酸を25～36重量%とすることができる。

【0020】また、本発明では、上記のリパーゼの反応において、ビタミンEを共存させることも好ましく、製造したトリグリセリドを含有する油脂の保存安定性、取扱性等の向上に寄与する。該ビタミンEとしては、α-トコフェロール、β-トコフェロール、γ-トコフェロール、δ-トコフェロール等のいずれかあるいは混合物が用いられ、好ましくは小葉胚芽油等が挙げられる。

【0021】本発明で製造したトリグリセリドは、2-位位に多く含有するγ-リノレン酸あるいはシホモγ-リノレン酸を全く遊離しないため、γ-リノレン酸あるいはシホモγ-リノレン酸を高度に含有し、また本発明の製造法では、上記のカラム法によるエステル交換反応を連続的に行なった場合、原料トリグリセリドに対して95モル%以上の回収率で、トリグリセリドを得る反応を30～200日程度連続運転することができる。更に得られたトリグリセリドを含む油脂を、室温で長期間放置しても酸価の上昇が少なく、保存安定性がよい。

【0022】

【実施例】以下、実施例により本発明をさらに具体的に説明する。但し、本発明は、これら実施例に限定されない。なお「%」とあるのは脂肪酸組成をガスクロで分析したピーク面積%を示す。

実施例1

セラミック担体SM-10〔日本ガイシ（株）製〕にリゾプス デルマー（*Rhizopus delemar*）のリパーゼ（田辺製薬社製、「タリパーゼ」5、000ユニット/担体g）8gを固定化した後、円筒形のカラム（直径1.5cm、長さ6.2cm、容量10.95cm³）に詰め、カラムの上端から、ボラージ油（トリグリセリド中のγ-リノレン酸29.4%、

度4ml/hr、空間速度0.589/hrで仕込みながら30℃でエステル交換連続反応を行った。得られた反応液は、反応開始1日後と90日後に通過液3g分取し、1N-水酸化ナトリウム水溶液を加えて中和し放置後、水層（下層）を除去して、トリグリセリド層（上層）をヘキサン抽出し、該ヘキサンを除去してグリセリド画分を得た。該グリセリド画分を、ODSカラム（AM120 S-50、YMC社製）で分析し、トリグリセリド画分は0.79gと算出された。得られたトリグリセリド画分を、常法によりメチルエステル化して、トリグリセリド中の脂肪酸組成をキャピラークロマトグラフィーで分析し、γ-リノレン酸は29.4%となった（原料トリグリセリド（γ-リノレン酸22.2%）1gからトリグリセリド0.79g（γ-リノレン酸29.4%）が得られたので、トリグリセリドの回収率は96モル%であった）。又、該油脂1gを密封試験管に入れ、室温で1ヵ月保存試験を行い、保存前、保存後の酸価を基準油分析試験法により測定し、酸価の上昇を測定し以下の様に評価した。

- 20 ◎・・・1mg KOH/油脂g未満
○・・・1～5mg KOH/油脂g未満
△・・・5～10mg KOH/油脂g未満
×・・・10mg KOH/油脂g以上

反応開始1日後の結果は表1に、90日後の結果は表2に示す。

【0023】実施例2

実施例1において、小葉胚芽油（エーザイ社製、「イーミックス」）を含まないボラージ油を用いた以外は同様に反応して、同様に分析しγ-リノレン酸を29.4%含有トリグリセリドを、原料ボラージ油に対して、回収率94モル%で得た。保存試験も同様に行った。結果を表1、2に示す。

【0024】実施例3

実施例1において、カプリル酸の替わりにカプリン酸（水分量200ppm）を同量用いて、同様に実施し、同様に評価した。結果を表1、2に示す。

【0025】実施例4

実施例1において、ボラージ油の替わりに、モルティエラ製抽出油（シホモγ-リノレン酸16%含有）を用いて、実施例1と同様に反応させ、実施例1と同様に評価し、結果を表1、2に示した。

【0026】実施例5

実施例2において、ボラージ油の替わりに、モルティエラ製抽出油（シホモγ-リノレン酸16%含有）を用いて、実施例1と同様に反応させ、実施例1と同様に評価

し、結果を表1、2に示した。

【0028】比較例1

実施例1において、ボランジ油の水分量を10ppmに、カプリル酸の水分量を10ppmのものを用いて、実施例1と同様に反応させ、実施例1と同様に評価し、結果を表1、2に示した。

【0029】比較例2

*

*実施例1において、ボランジ油の水分量を1000ppmに、カプリル酸の水分量を1000ppmのものを用いて、実施例1と同様に反応させ、実施例1と同様に評価し、結果を表1、2に示した。

【0030】

【表1】

トリグリセリド						保存試験	
GLA(%)		DGLA(%)		トリグリド			
原料	反応後	原料	反応後	回収率(%)			
実施例1	22.2	29.4	--	---	96	◎	
実施例2	22.2	29.0	--	---	94	○	
実施例3	22.2	29.0	--	---	96	◎	
実施例4	--	--	16.0	25.3	95	◎	
実施例5	--	--	16.0	25.0	95	◎	
実施例6	--	--	16.0	25.0	95	◎	
比較例1	22.0	28.5	--	---	98	○	
比較例2	22.0	28.0	--	---	90	○	

【0031】

※ ※【表2】

トリグリセリド						保存試験	
GLA(%)		DGLA(%)		トリグリド			
原料	反応後	原料	反応後	回収率(%)			
実施例1	22.2	29.2	--	---	95	◎	
実施例2	22.2	29.0	--	---	94	○	
実施例3	22.2	29.0	--	---	96	◎	
実施例4	--	--	16.0	25.3	95	◎	
実施例5	--	--	16.0	25.0	95	◎	
実施例6	--	--	16.0	25.0	95	◎	
比較例1	22.0	22.2	--	---	100	◎	
比較例2	22.0	23.0	--	---	75	○	

【0032】

【発明の効果】本発明では、γ-リノレン酸含有トリグリセリド及び/またはシホモγ-リノレン酸含有トリグリセリドを含む油脂に、中鎖脂肪酸、及び30～500ppmの水の存在下で、トリグリセリドの1、3-位の★

★エステル結合のみに作用するリパーゼを反応させることで、収率よく、該トリグリセリドが得られ、また固定化リパーゼを用いてカラムで長期間連続的に反応させることが可能となり、更に得られたトリグリセリドを含む油脂の保存安定性が良い。

フロントページの続き

(72)発明者 藤田 裕之
大阪府茨木市室山2丁目1番1号 日本合
成化学工業株式会社中央研究所内

(72)発明者 福岡 信浩
大阪府茨木市室山2丁目1番1号 日本合
成化学工業株式会社中央研究所内

(72)発明者 山上 知秀
大阪府北区野崎町9番6号 日本合成化学
工業株式会社内